

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 200433025

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

龙眼多糖的提取、分离纯化及初步结构分析

Extraction, Separation and Preliminary Structure Analysis

of Polysaccharide from Longan Fruit

厦门市翔安区科技局资助项目

杨 翠 娴

指导教师姓名: 李 清 彪 教 授

专 业 名 称: 生 物 化 工

论文提交日期: 2 0 0 7 年 5 月

论文答辩日期: 2 0 0 7 年 6 月

学位授予日期: 2 0 0 7 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2007 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。

2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

摘 要

龙眼多糖具有丰富的抗氧化、抗衰老、抗肿瘤等生物活性，具有很高的经济价值。本文主要研究了龙眼多糖的提取和分离纯化工艺，分析检测了分离得到的龙眼多糖各组分的纯度及分子量，并利用紫外可见光谱、红外光谱以及高效液相等分析测试手段对龙眼多糖的三个主要组分的化学组成和结构进行了研究。

“凤梨穗”龙眼是福建厦门的一大龙眼品种，本研究以其为原料，考察了传统热水浸提法、微波辅助浸提法、微波前处理—热水浸提法的不同工艺条件对龙眼多糖提取效果的影响。实验结果表明，微波前处理—热水浸提法能够有效的提取龙眼多糖，其多糖得率高于微波辅助提取方法和传统热提法。该法很好地结合了微波和热水浸提的优点，先利用短时高频率的微波前处理使细胞破碎，再利用热水浸提使多糖充分溶出。通过正交实验，确定了微波前处理—热水浸提法最佳工艺条件为：微波前处理功率 700 W，处理时间 60 s；后续热水浸提的龙眼果肉匀浆与水溶剂的浸提料液比为 1:15 (g: ml)，浸提温度 100 °C，浸提搅拌速度 240 r/min，浸提时间 7 h。在该工艺条件下，多糖得率可达 9.0 mg/g。

为了进一步分离纯化采用微波前处理—热水浸提法获得的龙眼多糖，本文采用 TCA 法脱除粗多糖提取液中的蛋白质，并利用透析去除小分子及盐类物质。在此基础上，采用 DEAE 52-纤维素阴离子交换柱从龙眼多糖中进行进一步分离，得到了一种中性多糖 LPS-N 和两种酸性多糖组分 LPS-A1 和 LPS-A2。LPS-N、LPS-A1 和 LPS-A2 的分子量分别为：13.8 kDa、1382 kDa 和 571 kDa。此外，利用超滤膜，通过采用“先膜分离后去蛋白”和“先去蛋白后膜分离”两种不同工艺，实现了龙眼多糖中性多糖和酸性多糖的有效分离。

紫外可见吸收光谱与红外光谱的分析结果表明龙眼多糖的三个主要组分 LPS-N、LPS-A1 和 LPS-A2 都是具乙酰氨基结构的 β 型吡喃多糖。LPS-N、LPS-A1 和 LPS-A2 的水解产物分析结果显示，LPS-N 是一种主要由木糖和葡萄糖组成的杂多糖；LPS-A1 的单糖成分是鼠李糖、木糖、阿拉伯糖和半乳糖，糖醛酸含量为 6 %；LPS-A2 的单糖组分为鼠李糖，糖醛酸含量为 19 %。

关键词：龙眼；多糖；提取；分离纯化

Abstract

Longan polysaccharide (LPS) has been proven to have several bioactivities, including anti-oxidation, anti-consenescence and anti-tumor activity, which confers Longan with high economic values. In this study, LPS was extracted, separated and purified into three constituents. The purity and the molecular weights of these three constituents were analyzed, and their basic chemical structure and characteristics were determined through various analytical techniques.

“Feng Li Shui” longan, one main longan breed in Tong’an, Xiamen, China, was used as the source of Longan polysaccharide in this study. Three different methods, traditional hot water extraction, microwave-assisted extraction and microwave assisted hot water extraction were applied to separate LPS from longan seed pulp. It was found that a higher yield of LPS was achieved while longan pulp was extracted by the microwave assisted hot water extraction. The result of orthogonal experiments showed that the optimal process parameters for this method were: microwave pretreatment with 700 W for 60 seconds, followed by hot water extraction with solid-liquid ratio of 1:15 under stirring speed of 240 r·min⁻¹ at 100 °C for 7 hours. The optimal yield of 9.0 mg·g⁻¹ (dried longan biomass weight) was achieved under these parameters.

The protein and small molecule impurity dissolved in the LPS extract were removed by TCA precipitation and dialysis, respectively. A DEAE 52-cellulose ion exchange column was used to further separate a neutral LPS (LPS-N) and two acid LPS (LPS-A1 and LPS-A2) from the LPS extract. The molecular weights of LPS-N, LPS-A1 and LPS-A2 were determined to be 13.8 kDa, 1382 kDa and 571 kDa, respectively. Furthermore, “ultrafiltration-protein removal” and “protein removal-ultrafiltration” process were applied in ultrafiltration process to effectively separate LPS-N, LPS-A1 and LPS-A2.

UV-VIS spectrum and FTIR analysis showed that three constituents of LPS, LPS-N, LPS-A1 and LPS-A2, are all β - heterosaccharides with pyran and acetyl

amino group. Analysis of the hydrolysis products of LPS-N, LPS-A1 and LPS-A2 showed that LPS-N was a heterosaccharide composed of xylose and glucose; LPS-A1 was composed rhamnose, xylose, arabinose and galactose and had 6 % of uronic acid; LPS-A2 was composed of rhamnose and had 19 % of uronic acid.

Key words: Longan; polysaccharide; extraction; separation and purification

厦门大学博士论文摘要库

目 录

| | |
|------------------------|----|
| 第一章 文献综述 | 1 |
| 1.1 龙眼的研究现状 | 1 |
| 1.1.1 龙眼简介 | 1 |
| 1.1.2 龙眼果肉的开发和利用 | 1 |
| 1.2 多糖的研究现状 | 6 |
| 1.2.1 多糖的来源和分类 | 6 |
| 1.2.2 多糖的提取工艺 | 7 |
| 1.2.3 多糖的分离与纯化工艺 | 12 |
| 1.2.4 多糖的纯度与分子量检测 | 17 |
| 1.2.5 多糖的结构分析 | 19 |
| 1.3 本文的研究意义、目的及内容 | 22 |
| 第二章 龙眼果肉多糖的提取工艺 | 24 |
| 2.1 引言 | 24 |
| 2.2 实验材料与方法 | 25 |
| 2.2.1 实验材料 | 25 |
| 2.2.2 主要实验仪器 | 25 |
| 2.2.3 实验方法 | 26 |
| 2.3 结果与讨论 | 29 |
| 2.3.1 龙眼品种对多糖提取率的影响 | 29 |
| 2.3.2 传统热水浸提法 | 30 |
| 2.3.3 微波辅助浸提法 | 30 |
| 2.3.3.1 料液比的影响 | 31 |
| 2.3.3.2 微波作用时间的影响 | 31 |
| 2.3.3.3 微波功率的影响 | 33 |
| 2.3.3.4 微波辅助浸提法的小结 | 33 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.4 微波前处理—热水浸提法..... | 33 |
| 2.3.4.1 热水浸提、微波辅助浸提、微波前处理—热水浸提方法的比较..... | 34 |
| 2.3.4.2 微波前处理—热水浸提法的工艺优化..... | 35 |
| 2.4 本章小结..... | 44 |
| 第三章 龙眼多糖的乙醇沉淀工艺..... | 46 |
| 3.1 引言..... | 46 |
| 3.2 实验材料与方法..... | 47 |
| 3.2.1 实验材料..... | 47 |
| 3.2.2 主要实验仪器..... | 47 |
| 3.2.3 实验方法..... | 47 |
| 3.3 结果与讨论..... | 50 |
| 3.3.1 乙醇浓度对龙眼多糖/蛋白质沉淀量的影响..... | 50 |
| 3.3.2 醇沉温度对龙眼多糖/蛋白质沉淀量的影响..... | 51 |
| 3.3.3 醇沉时间对龙眼多糖/蛋白质沉淀量的影响..... | 52 |
| 3.4 本章小节..... | 53 |
| 第四章 龙眼多糖的分离纯化、纯度鉴定及分子量检测..... | 54 |
| 4.1 引言..... | 54 |
| 4.2 实验材料与方法..... | 55 |
| 4.2.1 实验材料..... | 55 |
| 4.2.2 主要实验仪器及设备..... | 56 |
| 4.2.3 实验方法..... | 56 |
| 4.3 结果与讨论..... | 64 |
| 4.3.1 不同去蛋白方法的比较..... | 64 |
| 4.3.2 乙醇分级沉淀..... | 65 |
| 4.3.3 DEAE 52-纤维素柱对龙眼多糖的分离..... | 66 |
| 4.3.3.1 龙眼多糖混合物 LPS-II 的 HPGPC 谱图..... | 67 |

| | |
|--|----|
| 4.3.3.2 DEAE 52-纤维素柱对 LPS-II 的分离以及收集峰的纯度鉴定 | 67 |
| 4.3.3.3 高效凝胶渗透色谱法对龙眼多糖各组分的含量及分子量检测 | 73 |
| 4.4 本章小结 | 73 |

第五章 龙眼多糖的超滤膜分离 75

| | |
|-------------------------|----|
| 5.1 引言 | 75 |
| 5.2 实验材料与方法 | 75 |
| 5.2.1 实验材料 | 75 |
| 5.2.2 主要实验仪器及设备 | 75 |
| 5.2.3 实验方法 | 76 |
| 5.3 结果与讨论 | 79 |
| 5.3.1 料液浓度对膜通量和截留率的影响 | 79 |
| 5.3.1.1 料液浓度对膜通量的影响 | 79 |
| 5.3.1.2 料液浓度对截留率的影响 | 81 |
| 5.3.2 进出口压力差对膜通量和截留率的影响 | 82 |
| 5.3.2.1 进出口压力差对膜通量的影响 | 82 |
| 5.3.2.2 进出口压力差对截留率的影响 | 84 |
| 5.3.3 料液温度对膜通量和截留率的影响 | 85 |
| 5.3.3.1 料液温度对膜通量的影响 | 85 |
| 5.3.3.2 料液温度对截留率的影响 | 86 |
| 5.3.4 超滤膜分离效果的评价 | 87 |
| 5.3.4.1 “先膜分离再去蛋白”工艺 | 87 |
| 5.3.4.2 “先去蛋白后膜分离”工艺 | 88 |
| 5.4 本章小结 | 90 |

第六章 龙眼多糖的结构初步分析 91

| | |
|-------------|----|
| 6.1 引言 | 91 |
| 6.2 实验材料与方法 | 91 |

| | |
|-----------------------------------|------------|
| 6.2.1 实验材料..... | 91 |
| 6.2.2 主要实验仪器及设备..... | 92 |
| 6.2.3 实验方法..... | 92 |
| 6.3 结果与讨论..... | 95 |
| 6.3.1 紫外可见光谱分析..... | 95 |
| 6.3.2 红外光谱分析..... | 96 |
| 6.3.3 单糖组成分析..... | 98 |
| 6.3.3.1 单糖标准品的HPLC色谱分析..... | 98 |
| 6.3.3.2 HPLC法检测龙眼多糖的中性单糖组成..... | 102 |
| 6.3.4 龙眼多糖的糖醛酸组成分析..... | 105 |
| 6.3.4.1 单糖物质对硫酸-咔唑法测糖醛酸的干扰分析..... | 105 |
| 6.3.4.2 LPS-A1中的糖醛酸含量测定..... | 106 |
| 6.3.4.3 LPS-A2中的糖醛酸含量测定..... | 107 |
| 6.4 本章小结..... | 107 |
| 第七章 结论与建议..... | 109 |
| 参考文献..... | 111 |
| 附录..... | 123 |
| 在学期间发表论文..... | 148 |
| 致谢..... | 149 |

Contents

| | |
|---|-----------|
| Chapter 1 Introduction..... | 1 |
| 1.1 Current study on LONGAN | 1 |
| 1.1.1 Introduction of Longan..... | 1 |
| 1.1.2 Exploitation and Usage of Longan Pulp..... | 1 |
| 1.2 Current study on POLYSACCHARIDE..... | 6 |
| 1.2.1 Source and Type of Polysaccharide..... | 6 |
| 1.2.2 Extraction Technique of Polysaccharide..... | 7 |
| 1.2.3 Separation and Purification of Polysaccharide..... | 12 |
| 1.2.4 Determination of Polysaccharide Purity and Molecular Weight | 17 |
| 1.2.5 Polysaccharide Structure Analysis..... | 19 |
| 1.3 GOAL, SIGNIFICANCE AND CONTENT OF THIS STUDY..... | 22 |
| Chapter 2 The Extraction of Longan Polysaccharide (LPS) | |
| from Longan Pulp..... | 24 |
| 2.1 INTRODUCTION | 24 |
| 2.2 MATERIALS AND METHODS..... | 25 |
| 2.2.1 Materials..... | 25 |
| 2.2.2 Experimental Equipments..... | 25 |
| 2.2.3 Methods..... | 26 |
| 2.3 RESULTS AND DISCUSSION..... | 29 |
| 2.3.1 Polysaccharide Yield of Different Longan Breed..... | 29 |
| 2.3.2 Hot Water Extraction..... | 30 |
| 2.3.3 Microwave-assisted Extraction..... | 30 |
| 2.3.3.1 Effect of Solid-liquid Ratio..... | 31 |
| 2.3.3.2 Effect of Microwave Treatment Time..... | 31 |
| 2.3.3.3 Effect of Microwave Power..... | 32 |
| 2.3.3.4 Summary of Microwave-assisted Extraction Technique..... | 33 |

| | |
|---|-----------|
| 2.3.4 Hot Water Extraction Assisted by Microwave Pretreatment..... | 33 |
| 2.3.4.1 Comparison of Hot Water Extraction, Microwave-assisted Extraction and Hot Water Extraction assisted by Microwave Pretreatment..... | 34 |
| 2.3.4.2 Optimization of Hot Water Extraction assisted by Microwave Pretreatment..... | 35 |
| 2.4 CONCLUSIONS..... | 44 |
| Chapter 3 Precipitation of LPS by Ethanol | 46 |
| 3.1 INTRODUCTION | 46 |
| 3.2 MATERIALS AND METHODS..... | 47 |
| 3.2.1 Materials..... | 47 |
| 3.2.2 Experimental Equipments..... | 47 |
| 3.2.3 Methods..... | 47 |
| 3.3 RESULTS AND DISCUSSION..... | 50 |
| 3.3.1 Effect of Ethanol Concentration on Precipitation of Polysaccharide/Protein | 50 |
| 3.3.2 Effect of Temperature on Precipitation of Polysaccharide/Protein | 51 |
| 3.3.3 Effect of Time on Precipitation of Polysaccharide/Protein..... | 52 |
| 3.4 CONCLUSIONS | 53 |
| Chapter 4 Separation, Purification and Determination of Longan Polysaccharide Purity and Molecular Weight..... | 54 |
| 4.1 INTRODUCTION..... | 54 |
| 4.2 MATERIALS AND METHODS..... | 55 |
| 4.2.1 Materials..... | 55 |
| 4.2.2 Experimental Equipments | 56 |
| 4.2.3 Methods..... | 56 |
| 4.3 RESULTS AND DISCUSSION..... | 64 |
| 4.3.1 Comparison of Different Methods of Protein Removal..... | 64 |
| 4.3.2 Separation of LPS by Gradient Ethanol precipitation..... | 65 |

| | |
|--|-----------|
| 4.3.3 Separation of LPS by DEAE 52-Cellulose Chromatography..... | 66 |
| 4.3.3.1 High Performance Gel Permeation Chromatography Analysis of LPS-II Compound..... | 67 |
| 4.3.3.2 Separation of LPS-II by DEAE 52-Cellulose Chromatography and Purity Determination of LPS Fractions..... | 67 |
| 4.3.3.3 Content and Molecular Weight Determination of LPS Fractions..... | 73 |
| 4.4 CONCLUSIONS..... | 73 |
| Chapter 5 Separation of LPS by Ultrafiltration..... | 75 |
| 5.1 INTRODUCTION..... | 75 |
| 5.2 MATERIALS AND METHODS..... | 75 |
| 5.2.1 Materials..... | 75 |
| 5.2.2 Experimental Equipments | 75 |
| 5.2.3 Methods..... | 76 |
| 5.3 RESULTS AND DISCUSSION..... | 79 |
| 5.3.1 Effect of Polysaccharide Concentration on Membrane Flux and Rejection rate | 79 |
| 5.3.1.1 Effect of Polysaccharide Concentration on Membrane Flux..... | 79 |
| 5.3.1.2 Effect of Polysaccharide Concentration on Rejection rate..... | 81 |
| 5.3.2 Effect of Pressure on Membrane Flux and Rejection rate..... | 82 |
| 5.3.2.1 Effect of Pressure on Membrane Flux..... | 82 |
| 5.3.2.2 Effect of Pressure on Rejection rate..... | 84 |
| 5.3.3 Effect of Temperature on Membrane Flux and Rejection rate..... | 85 |
| 5.3.3.1 Effect of Temperature on Membrane Flux..... | 85 |
| 5.3.3.2 Effect of Temperature on Rejection rate..... | 86 |
| 5.3.4 Evaluation of Ultrafiltration of LPS..... | 87 |
| 5.3.4.1 “Ultrafiltration Followed by Proterin Removal ” Technique..... | 87 |
| 5.3.4.2 “Proterin Removal Followed by Ultrafiltration”..... | 88 |
| 5.4 CONCLUSIONS..... | 90 |
| Chapter 6 Preliminary Analysis of LPS Structure | 91 |

| | |
|--|-----|
| 6.1 INTRODUCTION | 91 |
| 6.2 MATERIALS AND METHODS | 91 |
| 6.2.1 Materials..... | 91 |
| 6.2.2 Experimental Equipments | 92 |
| 6.2.3 Methods..... | 92 |
| 6.3 RESULTS AND DISCUSSION | 95 |
| 6.3.1 UV-VIS Analysis..... | 95 |
| 6.3.2 FTIR Analysis..... | 96 |
| 6.3.3 Analysis of Carbohydrate Composition of LPS..... | 98 |
| 6.3.3.1 HPLC Analysis of monosaccharide Standard..... | 98 |
| 6.3.3.2 HPLC Analysis of Carbohydrate Composition of LPS..... | 102 |
| 6.3.4 Analysis of Uronic Acid Content of LPS..... | 105 |
| 6.3.4.1 Disturbance of Monosaccharide on Vitriol- Carbazole assay of Uronic Acid..... | 105 |
| 6.3.4.2 Uronic Acid Content of LPS-A1..... | 106 |
| 6.3.4.3 Uronic Acid Content of LPS-A2..... | 107 |
| 6.4 CONCLUSIONS | 107 |
| Chapter 7 Conclusions and Suggestions | 109 |
| References | 111 |
| Appendix | 123 |
| Publications During Graduate Study | 148 |
| Acknowledgement | 149 |

厦门大学博硕士论文摘要库

第一章 文献综述

1.1 龙眼的研究现状

1.1.1 龙眼简介

龙眼（英文学名 *Dimocarpus longan* Lour.）是一种无患子科（Sapindaceae）常绿植物，属乔木类。其果实通常也被称为龙眼，又名桂圆、龙目、比目、骊珠等。龙眼粗糙花期3~4月，果期7~8月。果实单果重10~15g；果皮黄褐色，皮薄且较光滑；食用部分龙眼果肉是假种皮，乳白或淡白色，汁多甜蜜，美味可口；种子圆至扁圆形，暗黑色或红棕色，圆滑有光泽。

目前龙眼的种植区域主要分布于东南亚地区，包括中国、泰国、越南等。在我国又以福建、台湾、广西、广东、海南、四川、贵州、云南等省区的龙眼种植最为广泛，其中福建、广东、广西等省的龙眼质量最优。龙眼营养价值高，自古以来就被视为珍贵补品。传统中医学认为，龙眼肉可用于治疗心血不足、体虚力弱、心悸怔忡、失眠健忘、贫血、自汗盗汗、脾虚泄泻及妇人产后浮肿诸症。李时珍的《本草纲目》记载道：“食品以荔枝为贵，而资益以龙眼为良”，《本草纲目》还进一步指出龙眼肉有“开胃健脾，补虚益智”的功效。《神农本草经》也评价龙眼能“主五脏邪气、安志、厌食，久服强魂魄，聪明，除蛊毒，去三虫。”《滇南本草》认为龙眼能“养血安神，长智敛汗，开胃益脾”。《折肱漫录》和《理虚元鉴》甚至认为龙眼的滋补作用能和人参相媲美。

尽管龙眼的医药价值早已被人们所认识，但对龙眼的有效成分及其生物活性一直缺乏系统和科学的研究，因此龙眼的医药价值一直未获得现代医学的肯定，也缺乏有效的开发。在近现代农业生产中龙眼一直以来都主要作为一种普通水果作物而被栽培和种植。也正因如此，龙眼医药价值的综合开发和利用具有十分巨大的潜力和空间。本文的研究目的是探索龙眼果肉的有效成分——龙眼多糖的提取以及分离纯化工艺，并分析其化学组成和结构，为龙眼的医药价值研究及开发和利用打下基础。

1.1.2 龙眼果肉的开发和利用

1.1.2.1 龙眼果肉的农业加工利用

目前龙眼在农业上是作为一种经济作物进行栽培和种植的。龙眼的果肉作为龙眼植物最具营养价值的部分，其农业加工和利用较为全面和成熟。龙眼果肉的

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库